دراسة تأثير مستخلص نبات الجوز Juglans regia على بعض البكتريا المسببة لألتهاب اللثة ومقارنته مع عقار الأميبينيم Imipenem

بشرى عباس بعيوي
مدرس مساعد
كلية التربية للبنات

جنان محمد حسين
مدرس مساعد
كلية التربية للبنات

الخلاصة:

تضمنت هذه التجربة إجراء اختبارات خارج الجسم الحي لمعرفة تأثير المستخلص المائي والكحولي لقلف نبات الجوز في تثبيط نمو ***Pseudomonas, Streptococcus, Staphylococcus aureus , Proteus*** وذلك لأهميتها السريرية بصفتها من أهم مسببات مرض التهاب اللثة ومقارنته مع عقار أميبينيم (IPM).

وقد بيّنت نتائج الدراسة أن المستخلص ذو تأثير فعال في تثبيط نمو بكتريا ***Staphylococcus aureus , Streptococcus*** إذ بلغ أعلى معدل قطر للتثبيط لبكتريا ***S, aureus*** (20 ملم) عند التركيز (400 ملغم/مل) بينما بلغ أقل معدل قطر للتثبط (١١ ملم) عند التركيز (٥٠ ملغم/مل) لبكتريا ***Streptococcus***. في حين لم يكن للمستخلص أي فعالية تثبيطية على بكتريا ***Pseudomonas*** و ***Proteus***.

كما وجد أن عقار الأميبينيم بتركيز (١٠ مايكروغرام) كان ذو تأثير فعال في تثبيط نمو كل أنواع البكتريا المدروسة إذ بلغ أعلى معدل قطر للتثبيط بالنسبة لبكتريا ***Staphylococcus aureus*** (٤٠ ملم) بينما بلغ أقل معدل قطر للتثبيط (١٩ ملم) لبكتريا ***Proteus***.

المقدمة:

التهاب اللثة هو السبب الرئيسي في سقوط الأسنان لدى البالغين وهو يصيب أكثر من ٧٥% من الناس بغض النظر عن العرق والمستوى الاقتصادي والاجتماعي (Listgarten and Lai, 1999) وهو التهاب بكتيري يحطم الأنسجة والأربطة والعظم المحيط بالأسنان (Theilade and Jorgensen, 1988)، وتحدث الإصابة نتيجة تعلق البكتريا فيما يسمى بالليوحة الجرثومية Bacterial Plaqu وهي عبارة عن مادة شفافة لزجة تتراكم باستمرار على سطح الأسنان إذا لم تتم إزالتها يومياً تتحول إلى طبقة صلبة تسمى الجير وتقوم البكتريا الموجودة فيها بإفراز المواد السامة التي تسبب التهاب اللثة (Takeuchi *etal*, 1974).

وتكمن خطورة هذا المرض بالإضافة إلى تساقط الاسنان ونزف اللثة والرائحة الكريهة للفم في أن المصابين بألتهاب اللثة ممكن أن ينقلوا كمية من هذه البكتريا مع كل وجبة غذائية إلى بقية أجزاء الجسم عن طريق الأوعية الدموية (Listgarten and Lai 1999).

وقد وجد أن بعض البكتريا المسببة لألتهاب اللثة لها علاقة بالجلطات التي تؤدي إلى الاصابة بسكتات قلبية أو دماغية حيث أن المرضى الذين يعانون من إلتهاب اللثة معرضون لخطر حدوث الجلطة الدماغية والسكتة القلبية أكثر من الناس العاديين بمعدل ثلاثة أضعاف وهناك رابط بين البكتريا الموجودة في الجير وخطر الاصابة بداء الرئة أو الداء الرئوي.

كما أشارت بعض الدراسات إلى ان النساء الحوامل اللاتي يعانين من امراض اللثة عرضة لولادة أطفال

ناقصي الوزن بمعدل سبعة أضعاف النساء الطبيعيات (Sela *etal*, 2005).

ويوجد أكثر من ٣٠٠ نوع من البكتريا في الفم بالإضافة إلى العديد من الجراثيم التي تم اكتشافها نتيجة البدء باستخدام تقنيات البايولوجي الجزيئي Molecular Biological Techniques (Wilson *etal*, 1997) .

وتلعب المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* دوراً كبيراً ومهماً في احداث اصابة الفم والتهاب اللثة وتعد من أكثر أنواع البكتريا المرضية انتشاراً في الفم (Smith *etal*, 2001) بالإضافة بكتريا *Streptococcus* و *Pseudomonas* و *Proteus* وغيرها من البكتريا التي تم عزلها من أشخاص مصابين بألتهاب اللثة (Tanner and Stillman, 1993) و (Chow, 1995) و (Senkinson and Dymock, 1999) و (Piovano, 1999).

وفي السابق كان من الممكن علاج هذه البكتريا وغيرها من الجراثيم باستخدام المضادات الحياتية كالبنسلين ومشتقاته لكن علاجها الآن أكثر صعوبة نتيجة زيادة مقاومتها لهذه المضادات (Bonjar, 2004). فقد لوحظ ان الانتشار الواسع لاستعمال المضادات الحياتية وبشكل عشوائي دون اتمام العلاج أدى إلى تفاقم المشكلة (Aledort, 2000). ولمواجهة هذا التحدي لجأ كثير من العلماء والباحثين إلى استخدام الاعشاب والنباتات كبدائل علاجية للمضادات. كما أن سهولة الحصول على مثل هذه الاعشاب وقلة كلفتها ساهمت في انتشارها على نطاق واسع في لوقت الحاضر (شبر ٢٠٠٤)، (الجواهري ٢٠٠٤) ولهذا تم إجراء هذه الدراسة للتعرف على تأثير مستخلص نبات الجوز باعتباره مواد فعالة من مصادر طبيعية كبدائل عن المضادات الحياتية في علاج هذه الجراثيم.

المواد وطرق العمل Materials and Methods

١- تم أخذ عزلات من البكتريا المسببة لألتهاب اللثة من مرضى مستشفى النجف العام.

٢- النبات: تم الحصول على النبات من السوق المحلي والجزء المستخدم هو القلف (القشرة الخارجية للساق).

٣- عقار Imipenem بتركيز ١٠ مايكرو غرام من شركة Bionalyse.

- الأوساط الزرعية استخدمت في هذه الدراسة عدد من الأوساط الزرعية لغرض تنمية أو تشخيص البكتريا هي:

وسط غراء ماكونكي Macconkey agar وسط غراء الدم Blood agar، وسط غراء مولر هنتون Muller-Hinton. Mannitol Salt agar، Chocolate agar، Nutrient agar.

٤- تحضير المستخلص المائي لنبات الجوز

تم تحضير المستخلص حسب طريقة (Hernande *etal*, 1994) بتجفيف جزء النبات المدروس (القلف) وذلك بوضعه في مكان غير معرض للشمس لمدة (٣-٥) أيام للتخلص من الرطوبة ثم طحن وأخذ (١٠ غم) من المسحوق الجاف ومزج مع (٢٠٠ مل) من الماء المقطر باستخدام الخلاط الكهربائي وترك لمدة ٢٤ ساعة بدرجة حرارة الغرفة بعدها رشح الخليط باستخدام عدة طبقات من الشاش الطبي ومن ثم طرد مركزياً بسرعة (٣٠٠٠) دورة/دقيقة لمدة ١٠ دقائق، ثم رشح المستخلص باستخدام الفرن بدرجة (٤٠ مْ) وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال.

٥- تحضير المستخلص الكحولي لنبات الجوز

تم تحضير المستخلص بوزن (٢٠ غم) من قلف نبات الجوز وتم اضافة (٤٠٠ ملم) من الكحول الأثيلي بتركيز ٩٧% ووضعت في جهاز الساكسوليت لمدة ٢٤ ساعة ثم وضعت المادة المستخلصة في أطباق وتركت لتجف وذلك حسب طريقة (Ladd *etal*, 1978).

٦- تحضير تراكيز المستخلصات النباتية

لغرض تحضير المحلول الخزين Stock solution للمستخلص المائي أخذ (٤٠ غم) من مسحوق المستخلص وأذيب في (١٠ مل) من الماء المقطر فأصبح لدينا محلول خزين بتركيز (٤٠٠ ملغم/مل) عقم المحلول بالترشيح للتخلص من الملوثات الجرثومية واستخدم كمصدر لتحضير بقية التراكيز (٥٠، ١٠٠، ٢٠٠ ملغم / مل). ثم أخذ (٤ غم) من مسحوق المستخلص واذيب في (٦ مل) من الكحول الأثيلي ثم أكمل الحجم إلى (١٠ مل) ماء مقطر فأصبح تركيز المحلول (٤٠٠ ملغم/مل) ومنه تم تحضير باقي التراكيز (٥٠، ١٠٠، ٢٠٠) ملغم/مل.

٧- دراسة تأثير المستخلص في نمو البكتريا

وذلك حسب طريقة الأنتشار من الأقراص المشبعة بالمستخلص النباتي حسب ما ذكره (Saxena *etal*, 1995) حضر عدد من الأقراص بقطر (٦ ملم) بأستخدام ورق الترشيح نوع Whatman paper، وقسمت الأقراص إلى مجاميع بواقع (١٠) أقراص لكل مجموعة في قنينة زجاجية

محكمة الأغلاق Vial وعقمت بالمؤصدة بعدها اضيف (١.٠ مل) من التركيز الأول إلى إحدى القناني الحاوية على ١٠ أقراص معقمة وتركت حتى تمام تشرب الأقراص بالمستخلص لمدة من (٢٠-٤٨) ساعة وكررت العملية نفسها مع باقي التراكيز.

تم أخذ ٤-٥ مستعمرات نقية ونقلت بأستعمال عروة الناقل إلى أنابيب اختبار تحتوي (٥ ملم) ماء مقطر ولحين ظهور العكورة عندها تم مقارنة الأنابيب مع أنبوبة ماكفرلاند القياسية وباستعمال الماء المقطر تم تعديل كثافة الأنابيب ونشرت البكتريا على وسط غراء مولر هنتون الصلب باستخدام الماسحة القطنية المعقمة وتركت لمدة (١٥ دقيقة) لتجف ولضمان التشرب الكامل للبكتريا بواقع ٤ أقراص للطبق يتوسطها قرص عقار الأميبينيم بواسطة ملقط معقم. ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة (٣٧ مْ) لمدة ٢٤ ساعة بعدها تم قياس منطقة التثبيط بواسطة المسطرة.

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج التجربة كما موضح في جدول رقم (١) أن المستخلص المائي والكحولي لنبات الجوز كان فعالاً في تثبيط بكتريا *S. aureus* و *Streptococcus* (لوحة رقم (١) A و B) إذ بلغ معدل قطر التثبيط لبكتريا *Staphylococcus aureus* (٢٠ ملم) عند التركيز (٤٠٠ ملغم/مل) بينما بلغ أقل معدل قطر للتثبيط (١١ ملم) عند التركيز (٥٠ ملغم/مل) لبكتريا *Streptococcus* ولوحظ أنه كلما ازداد التركيز يزداد معدل قطر التثبيط، وزيادة الفاعلية بزيادة التركيز وقد يعود إلى تأثير المستخلص على نفاذية غشاء الخلية وعمل الانزيمات الناقلة لخلية البكتريا وتعزى فعالية مستخلص نبات الجوز إلى وجود مركبات القلويدات في النبات وخاصة مادة البروسين Brucine التي تمثل نسبتها أكثر من ٥٠% من مجموع القلويدات التي تعد من المركبات الكيمياوية الفعالة في النباتات الطبية وهي واحدة من نواتج الأيض الثانوي للبروتينات وهي مركبات نتروجينية قاعدية تحتوي على ذرة أو أكثر من النتروجين التي تكون مندمجة عادة في نظام حلقي (Harbone 1982, 1984) وهي مواد بلورية متوازنة عديمة اللون والرائحة حساسة لدرجات الحرارة العالية سامة مُرة المذاق يتصف العديد منها بخصائص دوائية وتوجد معظمها في النباتات مع مواد دباغية Tannins لذا نستعمل في علاج الجروح والحروق وقد أشار عدد من الباحثين إلى أن لها تأثير في تخفيف الآلام وارتخاء التشنجات وبعضها ذو فعل تضادي واسع للجراثيم (Tyler *etal*, 1988) و (Waller and Nwaki, 1988) و (Mitsher, 1979).

وقد أثبت الكشف الكيميائي التمهيدي إن المستخلص يحتوي على القلويدات والفينولات والتانينات والتربينات كما تعزى فعالية وجود التربينات التي وجد إنها فعالة ضد البكتريا والفطريات والفايروسات والإبتدائيات إذ إنها تساعد على تخريب غشاء الخلية لإحتوائها على مركبات الـLipophilic (Cowan, 1999)، أو قد تعزى فعالية المستخلص أيضاً إلى وجود مركبات الفينولات الحاوية على مجموعة (OH) القطبية والفعالة التي تمتلك قابلية التفاعل والإرتباط بواسطة الأواصر الهيدروجينية مع المجاميع الفعالة للأنزيمات المساعدة Coenzymes وبالتالي يثبط نمو الجراثيم والفطريات (Al-Ani *etal*, 1996)

أما البكتريا *Pseudomonas* و *Proteus* لم تتأثر بالمستخلص شكل رقم (١ C-D) وقد يعزى ذلك إلى كون هذه البكتريا السالبة لصبغة غرام تمتلك العديد من الميكانيكيات لمقاومة مختلف المضادات البكتيرية ومن أهمها احتواء غلافها الخارجي Outer Memberrance على Lipopolysaccharid (LPS) الذي يتميز بقابلية على منع مختلف المضادات البكتيرية من النفوذ إلى داخل الخلية.

أما عقار الأميبينيم بتركيز (١٠ مايكروغرام) فقد كان فعالاً في تثبيط نمو بكتريا *Staphylococcus* و *Streptococcus* و *Pseudomonas* و *Proteus* كما أشار إلى ذلك (Mandell *etal*, 1990) فإن هذا المضاد يعد فعالاً ضد المسببات السالبة والموجبة لصبغة كرام في علاج الكثير من الأمراض وهذا المضاد لا يعد شائع الاستعمال في هذه البكتريا (فيروز علي، ٢٠٠٤). واللوحة رقم (١) تبين ما يلي:

A. صورة لبكتريا *Staphylococcus aureus*.
١. مستخلص مائي.
٢. مستخلص كحولي.

جدول رقم (١) تأثير أختلاف تراكيز المستخلص المائي والكحولي لنبات الجوز في معدلات أقطار البكتريا

نوع البكتريا	مستخلص كحولي				مستخلص مائي				عقار Imipenem 10 microgram
	٥٠ ملغم/مل	١٠٠ ملغم/مل	٢٠٠ ملغم/مل	٤٠٠ ملغم/مل	٥٠ ملغم/مل	١٠٠ ملغم/مل	٢٠٠ ملغم/مل	٤٠٠ ملغم/مل	
S. aureus	12 mm	15 mm	18 mm	20 mm	12 mm	13 mm	14 mm	17 mm	30 mm
Streptococcus	11 mm	15 mm	16 mm	18 mm	12 mm	16 mm	18 mm	19 mm	34 mm
Pseudomonas	-	-	-	-	-	-	-	-	28 mm
Proteus	-	-	-	-	-	-	-	-	19 mm

Abstract

This experiment was conducted to test in *vitro* the effect of the extract of bark of *Juglans regial* by cold water and Ethyl Alcohol on inhibition growth of the Microorganisms: *Staphylococcus aureus, Streptococcus, Pseudomonas* and *Proteus*. For its clinical importance due to the cause of human gingival and comparative with effect of Imipenem.

This experiment showed that the extract of a plant was effective on inhibition of growth of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus* the highest inhibition diameter was (20 mm) in *Staphylococcus aureus* in concentration (400 mg/ml) and the lowest inhibition diameter was (11 mm) in concentration (50 mg/ml) of *Streptococcus*. While the extract with out any inhibition activity on *Pseudomonas* and *Proteus* growth.

This study also showed that the all microorganisms studied more highly sensitive to Imipenem. The highest inhibition diameter was (40 mm) in *Staphylococcus aureus* while in the *Proteus* was (19 mm).

B. صورة لبكتريا *Streptococcus*.
١. مستخلص مائي.
٢. مستخلص كحولي.
C. صورة لبكتريا *Pseudomonas*.
صورة لبكتريا *Proteus*.

المصادر العربية

- **الجواهري، عبد الحسن ٢٠٠٤، طب الإمام علي (ع). ط ٢/ دار القاريء للطباعة والنشر والتوزيع ص ٢٠-٢٢.**
- **شبر، عبد الله ٢٠٠٤. طب الإمام علي (ع). ط ٣، ج١، مطبعة مهر ص ١٦-١٧.**
- **فيروز علي، جنان محمد حسين ٢٠٠٦. دراسة بكتريولوجية لمسببات تجرثم الدم الهوائية في**

النجف. رسالة ماجستير – كلية التربية، جامعة الكوفة.

References

- **AL-Ani, A.B.; Nadi, M; Al-Khazraji, N. (1996). The antimicrobial activity of volatile oils isolated from some Iraqi plants. Al-Anbar University J., 1(1): 82-86.**
- **Aledort, J., Laxmin arayan R.; Howard D., Seigher E. and Weldon S. (2000). International Works Shopen Antibiotic resistant; G. Lobal Policies and Option center for International Development Harvard University:1-22.**
- **Bonjar, S.G.H. (2004). Inhibition of Three of Staphylococcus aureus Mediated by Plates used by Iranian native people. Asian Jornal of Plant Sciences ;4(2):136-141.**
- **Chow, A.W. (1995). Infections of the oral cavity heck and head. New York N.Y.;4:593-606.**
- **Cown, M.M. (1999). Plant products as Antimicrobial Agents Clinical Microbiology Review; 12(4): 564-584.**
- **Harbon, J.B. (1982). Introduction to Ecological Biochemistry. Academic Press, New York.**
- **Harbon, J.B. Phytochemical Methods. (1984). A guide to Modern Techniques of Plants Analysis. 2nd Chapman and Hall. London New York.**
- **Hernandez, M; Lopez R.; Abnas R.N.; Paris V and Arias A. (1994). Anti mericrobial activity of Visinea Mocanera Leaf extracts. J Ethnophar Macology; 41:115-119.**
- **Jenkinson, H.F. and Dymock D. (1999). The Microbiology of Periodontal Disease. Dent up date;26:191-197.**
- **Ladd, T.L. Jacobson, M. and Buriff, C.R. J. (1978). Econ Entorol 1978; 71:810-813.**
- **Listgraten, M. and Lai, CH. (1999). Comparative Microbiological Characteristics of failing implants and periodontally diseased teeth. J Periodontal;70:431-437.**
- **Mandell, G.L; Douglas RG, Bennett J.E. (1990). Principles and Practice of Infection diseases :3rd. New York: Churchill Living stone; 257-280.**
- **Piovano S. (1999). Bacteriology of most frequent oral anaerobic infections. Anaerobic;5:221-227.**
- **Saxena A.P.; Farmers, S.; Hancor, R. and Tower G. (1995). Antimicrobial Compounds from Anuls Vubra. Int. J of pharmico G. nosy; 33-36.**
- **Sela, M.N., Natan G., Lahave M., Ginsburg I. and Disnon T.D. (2005). Bacteriolytic activity of human gingival exudates. Medicne;4(2):195-203.**
- **Smith A.J.; Jackson M.S., and Baga J. (2001). The ecology of *Staphylococcus* Species in the oral cavity. J. Med Microbiol ; 50:940-946.**
- **Takeuchi, H., Sumitani, M.; Tsubakimoto K. Tsutsui, M. (1974). Oral**

Microorganisms in the gingival of individuals with periodontal disease. J Dent Res;53:132-136.

- **Tanner, A. and Stillman N. (1993). Oral and Dental Infections with anaerobic bacteria: Clinical features, Predominant Pathogens and treatment. Clin. Infect. Dis.; 16(4):304-309.**
- **Theilade, E. and Budtz-Jorgensen, E. (1988). Predominant cultivable micro flora of plaque on removable dentures in patients with denture induced stomatitis. Oral Microbiol Immunol ;3:8-13.**
- **Tyler, V.E.; Brady L.R. and Robbes (1988). Pharmacognosy, 9th Lea and Febiger Philadelphia.**
- **Waller, A.G. and Nowack, BG. (1982, 1984). Biology and Metabolism in Plants Plenum Press New York.**
- **Wilson, M.j; Weightman A.J; Wade WG. (1997). Applications of Molecular ecology in the characterization of uncultured microorganisms associated with human disease. Rev. Med Microbiol ;8:91-101.**